

внутрибрюшинно по 0.5 мкг рекомбинантной дрожжевой вакцины против гепатита В (НПК «Комбиотех», Москва). Для оценки иммунитета против гепатита В у мышей каждой группы собирали препараты крови. Получаемую сыворотку крови анализировали методом ИФА на наличие антител против HBsAg. Уровень антител к HBsAg в сыворотке крови мышей первой и второй групп возрос на 36-50-е сутки после первого кормления. С целью исследования усиления иммунного ответа против HBsAg, синтезируемого трансгенными растениями, животным первой и второй групп внутрибрюшинно вводили коммерческую рекомбинантную дрожжевую вакцину против гепатита В (0.5 мкг/мышь). Содержание антител стало повышаться у мышей обеих групп уже через неделю после инъекции и достигло максимума у разных мышей через 15-43 суток (до 112-350 мМЕ/мл). На 120-е сутки после начала эксперимента уровень антител к HBsAg в обеих группах мышей оставался протективным (более 10 мМЕ/мл). Через год было проведено повторное кормление мышей экспериментальных групп клубнями трансгенного картофеля. У ряда мышей уровень антител к HBsAg в сыворотке крови повысился до 140-185 мМЕ/мл. Полученные данные показывают перспективность использования трансгенных растений картофеля для создания съедобной вакцины против вируса гепатита В.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 08-08-00328) и Программы Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере "Участник молодежного научно-инновационного конкурса (У.М.Н.И.К.)"-2009.

Библиографический список

Шульга Н.Я., Рукавцова Е.Б., Крымский М.А., Борисова В.Н., Мельников В.А., Быков В.А., Бурьянов Я.И. Экспрессия поверхностного антигена вируса гепатита В в трансгенных растениях картофеля и его характеристика // Биохимия. 2004. Т. 69. Вып. 10. С. 1422-1430.

ИНДУКЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ ЭЛИСИТОРАМИ И СИГНАЛЬНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ

Г.Ф. Бурханова¹, Е.А. Заикина², Р. И. Касимова¹, Л.Г. Яруллина¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, e-mail: yarullina@bk.ru

²ГОУ ВПО Башкирский государственный университет

Процесс распознавания патогенов в растениях осуществляется с помощью сигнальных систем, которые определяют реакцию клеток на различные химические и физические воздействия. Число веществ, выполняющих функции медиаторов сигнальных систем, постоянно возрастает. Такую роль могут выполнять жасмоновая (ЖК) и салициловая (СК) кислоты, окись азота, перекись водорода и некоторые другие соединения. Эффективными элиситорами защитных реакций растений являются многие природные олигосахариды, в первую очередь структурные

компоненты клеточных стенок грибов (гликан, хитин, хитозан) и растений (олигогалактоурониды).

В качестве элиситоров в данной работе использовали водорастворимые производные хитина – хитоолигосахариды (ХОС), СК и ЖК. Анализировали 7-ми суточные проростки пшеницы *T. aestivum* L. сорта Башкирская 24, инфицированные возбудителем септориоза *S. nodorum* и пробирочные растения картофеля сорта Ранняя роза, зараженные возбудителем фитофтороза *Ph.infestans*. У части проростков пшеницы срезали листья и помещали их во влажную камеру на фильтровальную бумагу, смоченную в растворе бензимидазола (40 мг/л). Отрезки листьев инокулировали суспензией пикноспор *S. nodorum* из расчета 10^6 спор/мл. ХОС (1мг/л), СК и ЖК в концентрациях 0.05 мМ и 10^{-7} М, соответственно, использовали для замачивания семян пшеницы (3 часа). Пробирочные растения картофеля культивировали на среде Мурасиге и Скуга, содержащей индукторы устойчивости в указанных концентрациях. Растительный материал инфицировали суспензией зооспор патогена *Ph.infestans* (10^5 спор/мл). ДНК из растений выделяли фенольно-детергентным методом. Для получения кДНК на основе мРНК изучаемых образцов проводили реакцию обратной транскрипции с использованием М-MuLV обратной транскриптазы.

Результаты исследований показали, что в неинфицированных листьях пшеницы транскрипт проявлялся слабо, в то же время при инфицировании *S. nodorum* экспрессия гена анионной пероксидазы и оксالاتоксидазы усиливалась. Обработка растений пшеницы индукторами устойчивости различной природы индуцировала экспрессию гена анионной изопероксидазы. Причем уровень экспрессии гена анионной пероксидазы и оксالاتоксидазы в инфицированных необработанных растениях был ниже, чем в предобработанных и инокулированных. Для анализа экспрессии гена анионной пероксидазы картофеля были сопоставлены полисахарид-связывающие домены пероксидазы пшеницы и картофеля, в которых выявлена гомология. Далее были подобраны специфичные праймеры, фланкирующие консервативный участок гена, размером 282 п.н. С помощью ОТ-ПЦР выявлено, что ген анионной пероксидазы экспрессируется конститутивно в растении картофеля. При инфицировании, под влиянием ХОС, салициловой и жасмоновой кислот экспрессия гена анионной пероксидазы картофеля возрастала практически в два раза по сравнению с контролем.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что обработка хитоолигосахаридами, салициловой и жасмоновой кислотами индуцирует экспрессию гена оксالاتоксидазы и анионной изопероксидазы в растительных тканях при инфицировании *S. nodorum* и *Ph. infestans*, что свидетельствует о вовлечении кодируемых ферментов в защитные реакции растений к грибным патогенам.

Работа выполнена при финансовой поддержке АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676, Минобрнауки НК 542 П 13, ФЦП «Научные и